Aus dem Hygienischen Institut der Universität Marburg
Direktor: Professor Dr. W. Pfannenstiel

Über das synergistische Verhalten der Vitamine B und D und ihre gemeinsame Einwirkung auf den Blutchemismus

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
der hohen Medizinischen Fakultät
der Universität Marburg

vorgelegt von

FRITZ WENZEL
Medizinalpraktikant
aus Marburg

Marburg 1933

HANS CHRISTIANS DRUCKEREI UND VERLAG, HAMBURG 36

Angenommen von der Medizinischen Fakultät in Marburg
am 29. November 1933.

Gedruckt mit Genehmigung der Fakultät.

Referent: Prof. Dr. Pfannenstiel.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Einleitung.

Obgleich alle Arbeiten über Ausfallserscheinungen beim Mangel eines Vitamins in der Nahrung das Studium von dessen Wirkungsweise auf den Stoffwechsel in sich einschließen, sind doch die Veränderungen, die der Blutchemismus unter dem Einfluß der Zufuhr bestimmter Vitamine erleidet, bisher noch keineswegs ausreichend erforscht. Das gleiche gilt auch für die Untersuchungen über die durch Überdosierung von Vitaminpräparaten zu erzeugenden Vergiftungen, die sog. „Hypervitaminosen". Größere Beachtung wurde hierbei lediglich den Alterationen geschenkt, welche der Blutchemismus, die Abwehrfunktionen des Organismus und der gewebliche Aufbau infolge einer D-Hypervitaminose erfährt. U. a. ergab sich aus derartigen Untersuchungen, daß die schädliche Wirkung der Überdosierung eines Vitaminfaktors wesentlich von dem Vorhandensein oder Fehlen anderer Vitamine beeinflußt wird. Es läßt sich also eine gewisse Abhängigkeit der Vitamine voneinander feststellen. Im Haushalt des gesunden Individuums scheinen sich die Vitamine in einem Gleichgewichtszustand („Vitaminbalance", HARRIS und MOORE [1]) zu befinden.

Über die synergistische Wirkung der Vitamine B und D liegen bereits zahlreiche Untersuchungen vor:

So sahen PFANNENSTIEL [37], JUSATZ [23, 24], HOLSEN [21], LIGTH, MILLER, FREY [30] und COCCHERI und ROSSI [11], daß die toxischen Erscheinungen der D-Hypervitaminose, die äußerlich durch Abmagerung, Gewichtsabfall und Kachexie charakterisiert sind, verhindert, oder zumindest verzögert werden konnten, falls neben Vitamin D auch Vitamin B verabreicht wurde. Dieselben Beobachtungen machte HERMANN [18], der statt der üblichen Vitamin B-Präparate Kombuchal gab; der einer D-Hypervitaminose entgegenwirkende Einfluß dieses Pilzpräparates beruht

vermutlich gleichfalls auf dessen Vitamin B-Gehalt. JUSATZ (24) und RIX (41) wiesen nach, daß in analoger Weise auch die Sklerosierungsprozesse bei den Versuchstieren, die sowohl B-Vitamin als auch D-Vitamin bekamen, nicht so deutlich ausgeprägt waren, als bei denjenigen Tieren, die nur Vitamin D erhalten hatten. Über das synergistische Verhalten der Vitamine B und D bezüglich der Blutfermente liegen Arbeiten von JUSATZ (23, 24) vor, wonach eine Steigerung des Kataiaseindex ganz besonders durch gleichzeitige Darreichung von Vitamin B und D erzielt werden konnte. PFANNENSTIEL (37), PFANNENSTIEL und SCHARLAU (36), HOLSEN (21) und WEICHARDT (52) konnten eine deutliche Steigerung der bakteriziden Kräfte des Blutes durch gleichzeitige Vitamin B- und D-Darreichung nachweisen. Nach den Untersuchungen von HERMANN (18) blieb die für die D-Hypervitaminose charakteristische Erhöhung des Serumcholesterinspiegels bei Verabreichung von Kombuchal aus. Soweit der Cholesterinspiegel bereits vor der Zugabe von Kombuchal durch Vitamin D erhöht war, konnte er durch die Darreichung von Kombuchal wieder zur Norm zurückgebracht werden.

Nach HARRIS und MOORE (17) hat HOPKINS bereits im Jahre 1923 die Beobachtung gemacht, daß ein Überschuß von Lebertran (Vitamin A!) schädigende Wirkungen auf Ratten hatte, die jedoch durch Vitamin B-Gaben kompensiert werden konnten.

Aus allen diesen Beobachtungen ergab sich die Fragestellung, in welcher Weise die Beeinflußung einer experimentellen D-Hypervitaminose durch Vitamin B-Zulage in Veränderungen des Blutchemismus ihren Ausdruck finden könnte. In erster Linie erschien es wichtig festzustellen, ob sich im Ablauf der bereits bekannten, für übermäßige Vitamin D-Zufuhr charakteristischen Erscheinungen einer zunehmenden Hyperphosphatämie und Hypercholesterinämie unter der Einwirkung gleichzeitiger Vitamin B-Gaben Änderungen ergeben und in welcher Weise der Aufbrauch des Fettdepots und seine Verschiebung in einer Veränderung des Serumfettes zum Ausdruck kommt.

Methodische Vorbemerkungen.

Die Versuche wurden an Kaninchen durchgeführt, von denen einige (die Tiere Nr. 14, 15, 16) durch langdauernde, übermäßige Vitamin D-Zuführung (0.012—1.8 mg täglich) in einen hypervitaminotischen Zustand gebracht worden waren. Gleichzeitig erhielt eine andere Versuchsreihe (die Tiere Nr. 21, 22, 23) neben der Vitamin D-Zufütterung Vitamin B in Form des Trockenhefepräparates „Levurinose Bläs" (5—10 g täglich) verabreicht. Zur Kontrolle wurde eine gleiche Anzahl Kaninchen (die Tiere Nr. 11, 12, 13) mit denselben Mengen Hefe allein gefüttert, während eine vierte Versuchsreihe (die Tiere Nr. 24, 25, 26) ohne jegliche Vitaminzufütterung blieb.

Alle Tiere erhielten das gleiche, möglichst vitaminarm gemachte, sonst aber der üblichen Nahrung vollständig entsprechende Futter, um nach Möglichkeit alle übrigen Einflüsse der Ernährung, insbesondere der bei synthetischen Kostformen andersgearteten Mineralzufuhr, auszuschalten. Morgens wurde den Tieren etwa 120 g mit Wasser angerührter Weizenkleie gereicht, die zuvor eine Stunde lang im Autoklaven in gespanntem Wasserdampf von 120° vorbehandelt worden war. Durch diesen Prozeß werden die darin enthaltenen hitzeempfindlichen Faktoren, insbesondere die thermolabile Komponente des Vitamin B-Komplexes, unwirksam gemacht. Abends erhielten die Tiere etwa 120 g autoklavierten, ungeschälten Hafer. Dazu bekamen sie beliebige Mengen Heu als Unterlage, dessen Vitamin A- und C-Gehalt in meinen Versuchen keine wesentliche Rolle spielen dürfte.

Unberücksichtigt blieb bei dieser Fütterungsmethode die genaue Feststellung des Phosphat- und Calciumgehaltes des Futters. Viele Autoren legen hierauf bezw. auf das Verhältnis zwischen Phosphat- und Calcium-Gehalt in der Diät außerordentlichen Wert; sie konnten durch Veränderung der Kalk-Phosphormengen im Futter die toxischen Vitaminerscheinungen wesentlich beeinflussen (HARRIS [16], JONES, RAPOPORT, HODES [22], MASSENGALE und NUSSMEIER [31], SHELLING [47]).

Das Gewicht der Tiere wurde regelmäßig kontrolliert. Nachdem sämtliche Tiere die ersten 14 Tage auf oben genannte Kost gesetzt worden waren[1]) bekamen die Kontrolltiere (Nr. 24, 15, 26) das übliche, nicht zuvor erhitzte Futter verabreicht, während die Tiere Nr. 14, 15, 16 zu dem vitaminarmen Futter Vigantol (Merk-Darmstadt) per os in folgender Dosierung erhielten (die Mengen sind in mg wirksamen kristallinischen Vitamins D angegeben):

Versuchstag	mg	Versuchstag	mg
1.—10.	je 0.012	41.—44.	je ?[2])
11.—17.	je 0.024	45.—46.	je 1.5
18.—20.	je 0.06	47.	je —
21.—23.	je 0.12	48.	je 1.8
24.—25.	je 0.15	49.	je 0.6
26.—27.	je 0.3	50.	je ?[2])
28.	je 0.45	51.—52.	je —
29.—40.	je 0.6	53.—57.	je 1.8

Die Tiere Nr. 11, 12 und 13 erhielten zu dem vitaminarmen Futter Hefe (unter die Kleie gemischt) in folgender Dosierung:

Versuchstag	Gramm	Versuchstag	Gramm
1.—18.	je 8.0	26.—39.	je 10.0
19.	je 4.0	40.	je —
20.—25.	je 5.0	41.—57.	je 10.0

Die Tiere Nr. 21, 22, 23 erhielten sowohl Vigantol wie auch Hefe, und zwar ebenfalls in der oben angegebenen Dosierung.

Die Blutentnahmen erfolgten morgens aus den Ohrvenen. Die Kaninchen blieben zu diesem Zweck nüchtern; eine Beeinflussung des Blutchemismus durch die letzte Nahrungsaufnahme am Abend vorher war nicht mehr zu erwarten.

[1]) Hier sei schon darauf hingewiesen, daß die Kontrolltiere aus technischen Gründen erst 9 Tage später auf Mangel- bzw. Normal-Futter gesetzt werden konnten, was für die Auswertung der Ergebnisse bei den Fettuntersuchungen von Bedeutung ist (siehe später!).

[2]) Aushilfsweise wurde hier das alte sog. „1%" Vigantol gegeben, dessen Wirksamkeit wegen der bei diesem Präparat fehlenden Standardisierung nicht mit Sicherheit angegeben werden kann.

Die chemischen Untersuchungsmethoden.

Das Phosphorbestimmungsverfahren.

Zur Bestimmung des anorganischen Serumphosphors kam nur eine Mikromethode in Frage, da größere Blutverluste wegen der allein durch sekundäre Anämien hervorgerufenen Veränderungen des Blutchemismus und auch mit Rücksicht auf die nebenherlaufenden Untersuchungen vermieden werden mußten. Als geeignete Methode wird das ursprünglich von BELL-DOISY (4) angegebene, von BRIGGS (9) verbesserte und schließlich von WARKANY (49) in eine Mikromethode abgeänderte Verfahren empfohlen. FREUDENBERG (14) bezeichnet es als wünschenswert, daß diese allgemein bewährte Methode grundsätzlich für wissenschaftliche Untersuchungen angewandt wird, damit bei Veröffentlichungen Vergleichswerte angegeben werden können. Wie ich durch regelmäßige Doppelbestimmungen feststellen konnte, waren die gefundenen Werte durchaus zuverlässig.

Die Phosphorbestimmung geht in folgender Weise vor sich:

Das Blut wird zur Gewinnung des Serums in U-förmig gebogenen Kapillarröhrchen aufgefangen. Ist das Blut geronnen, so werden mit einem feinen Glasstäbchen die Ränder der in den Schenkeln stehenden Blutkuchen vorsichtig abgelöst. Durch etwa 5 Minuten langes, scharfes Zentrifugieren setzt sich oben in den beiden Schenkeln des Röhrchens das Serum völlig klar ab. An der Grenze zwischen Blutkuchen und Serum werden die Röhrchen durchgesägt, und das Serum wird in ein Schälchen geblasen. Mit einer geeichten Pipette bringt man 0.2 ccm des Serums in ein Zentrifugenröhrchen und verdünnt mit 0.6 ccm dest. Wasser. Zur Enteiweißung werden noch 0.2 ccm 20% Trichloressigsäure hinzugesetzt, sodaß das Röhrchen 1.0 ccm Flüssigkeit enthält. Durch Umrühren entsteht ein milchig-weißes Gemisch.

Nach FREUDENBERG (14)[3]) läßt man die Trichloressigsäure 10 Minuten lang auf das Serum einwirken

[3]) Herrn Prof. Dr. Freudenberg möchte ich auch an dieser Stelle dafür danken, daß er mich liebenswürdigerweise in die Phosphorbestimmungsmethode eingeführt und mir die dazu benötigte Phosphorstandardlösung zur Verfügung gestellt hat.

und zentrifugiert das Ganze dann etwa 5 Minuten lang bei 4000 Umdrehungen. Die Schleuderung erspart die von WARKANY ursprünglich angegebene Filtrierung, die ein Spezialfilter erfordert. Im Zentrifugenröhrchen hat sich inzwischen ein fester Bodensatz von gefälltem Serumeiweiß abgesetzt. Darüber steht eine klare, farblose Flüssigkeit. Leider zeigt sich manchmal in der überstehenden Flüssigkeit eine geringe, durch feinste Flöckchen hervorgerufene Trübung, die ihr eine leichte Opaleszenz verleiht. Auch durch nochmaliges Zentrifugieren gelingt es nicht, die Trübung zum Verschwinden zu bringen. Diese Seren sind dann wegen der später im Kolorimeter auftretenden Farbdifferenzen nicht mehr zu verwenden.

Von der klaren Flüssigkeit werden 0.5 ccm in ein geeichtes 1 ccm-Röhrchen abpipettiert und je 0.1 ccm eines Ammonmolybdat-, Hydrochinon- und Natriumsulfit-Reagenz zugesetzt (diese Reagenzien habe ich nach der Originalvorschrift von BRIGGS (9) hergestellt und geprüft). Bis zur Marke wird mit dest. Wasser aufgefüllt. Der Inhalt des Röhrchens entspricht also 0.1 ccm Serum. In gleicher Weise stellt man eine Vergleichslösung her, jedoch in 10facher Menge. Statt des zu untersuchenden Materials wird dieser eine bestimmte Menge Phosphorstandardlösung hinzugefügt. Es empfiehlt sich, die Konzentration der Phosphorstandardlösung in der Vergleichsflüssigkeit der zu erwartenden Konzentration des Serumphosphors anzupassen. Nach 20 Minuten zeigen die zu untersuchenden Flüssigkeiten ihrem Phosphorgehalt entsprechend eine mehr oder weniger intensive Blaufärbung, die durch Verbindung des Phosphors mit dem Molybdän zustande kommt. Zum Vergleich der Lösungen verwandte ich das HELLIGE-Universalkolorimeter nach AUTENRIETH-KONIGSBERGER.

Das Cholesterinbestimmungsverfahren.

Schwierigkeiten bestanden bei der Wahl der Cholesterinbestimmungsmethode. Eine geeignete Mikromethode gibt es zurzeit noch nicht. Es handelte sich nun darum, ob einer kolorimetrischen oder einer gravimetrischen

Methode der Vorzug zu geben war. Für die Wahl eines gravimetrischen Verfahrens sprach die Genauigkeit der durch sie erzielten Werte, dagegen ihre große Umständlichkeit, die sie für Reihenuntersuchungen, zumal im Hinblick auf die gleichzeitigen Phosphor- und Fett-Bestimmungen als ungeeignet erscheinen ließ. Trotz mancher Bedenken gegen ihre Zuverlässigkeit habe ich die von vielen Autoren abgelehnte Methode nach LIEBERMANN-BURCHARD in der AUTENRIETH-FUNKschen Modifikation (2) wegen ihrer Einfachheit benutzt.

Ich bin dabei in folgender Weise vorgegangen:

4—5 ccm Blut werden in einem Zentrifugenröhrchen aufgefangen. Nach Gerinnung des Blutes wird der Blutkuchen vorsichtig vom Rande abgelöst. Durch Zentrifugieren erhält man etwas über 2 ccm klares Serum. Davon werden 2 ccm (mit geringeren Ausgangsmengen kann man Cholesterinbestimmungen im normalen Kaninchenserum, dessen Werte etwa bei 0.03 mg liegen, wegen des geringen Cholesteringehaltes nicht auskommen) mit einer geeichten Pipette in einen kleinen Erlenmeyer gebracht. Zwecks Verseifung werden 20 ccm 25% Kalilauge hinzugesetzt, und das Gemisch 2 Stunden lang im kochenden Wasserbad erhitzt. Nach einem im Marburger Pathologischen Institut üblichen Verfahren neutralisierte ich danach das Gemisch mit 25% Salzsäure, wodurch es gelingt, das Cholesterin wesentlich schneller und leichter mit Chloroform zu extrahieren. Auf Rat von Herrn Dr. Ernst MUELLER in Marburg schüttelte ich in einem Scheidetrichter statt mit 100 ccm Chloroform, wie AUTENRIETH vorschreibt, nur mit 50 ccm aus. Die spezifisch schwerere Chloroform-Cholesterinlösung setzt sich unter dem Serumgemisch scharf ab und kann bequem abgelassen werden. Der noch trüben und leicht gelblich-bräunlich gefärbten Lösung werden einige Gramm Natriumsulfat zugesetzt, um die Trübungen und Verfärbungen niederzureißen. Durch Filtration erzielt man eine fast farblose Flüssigkeit, die völlig klar sein muß. Das Filtrat dampfte ich auf 25 ccm ein. Durch die geringere Menge Chloroform und das Eindampfen erzielte ich die 4fache Cholesterinkonzentration, da sich sonst die Konzentration der nach Originalvorschrift hergestellten Lösung

aus Kaninchenserum außerhalb des Meßbereiches des Kolorimeters befunden hätte. 5 ccm der Chloroform-Cholesterin-Lösung werden dann zusammen mit 2 ccm Essigsäureanhydrit und 0.1 ccm reiner konzentrierter Schwefelsäure in ein graduiertes 10 ccm-Meßzylinderchen mit eingeschliffenem Glasstöpsel gebracht. Der Zylinder wird in ein Wasserbad von 35° gestellt und 20 Minuten im Dunkeln stehen gelassen. Proportional dem Cholesteringehalt der Lösung entsteht eine mehr oder weniger intensive Grünfärbung. Zum Farbvergleich benutzte ich ein HELLIGE-Kolorimeter mit einem mitgelieferten geeichten Cholesterinkeil.

Manche Autoren, wie z. B. FAHRIG und WACKER (12) fanden mit dieser Methode ebensogut übereinstimmende Werte wie mit der gravimetrischen von WINDAUS. Nach MUELLER (32) ist es jedoch schon deshalb unmöglich, wirklich exakte Werte zu bekommen, weil fast nie gleiche Farben bei der zu untersuchenden und bei der Vergleichs-Lösung erscheinen.

Da mir kein anderer Apparat (Stufenphotometer) zur Verfügung stand, mußten meine Untersuchungen dennoch mit dem HELLIGE-Kolorimeter durchgeführt werden. Der Cholesterinextrakt nahm dabei nach dem Zusatz von Essigsäureanhydrit und Schwefelsäure meist einen ins gelbliche gehenden, grünlichen Farbton an, sodaß ich oft gezwungen war, statt wie angegeben auf Farb-, auf Licht-Gleichheit einzustellen. Trotzdem ließen sich die in meiner Versuchsanordnung erreichten größeren Ausschläge noch hinreichend genau messen.

Das Fettbestimmungsverfahren.

Zur Bestimmung des Serumfettes, d. h. des Neutralfettes und der aus den Cholesterinestern und Phosphatiden stammenden Fettsäuren, benutzte ich das von RÜCKERT (43, 44)[4]) ausgearbeitete volumetrische Verfahren, die sog. „Hämolipokritmethode", die auf folgendem Prinzip beruht:

[4]) Herrn Dr. Rückert danke ich an dieser Stelle für die freundliche Einführung in seine Methode.

Das zu untersuchende Serum wird in derselben Weise wie bei der Phosphorbestimmungsmethode (s. oben!) gewonnen. Die eigentliche Bestimmung erfolgt in dem sog. Hämolipokritröhrchen, einer der Erythrozytenpipette nachgebildeten Glaspipette. Dicht an die Ampulle ist eine zweite kleine Ampulle von etwa 0.15 ccm Inhalt angeschmolzen. Die beiden Kammern sind durch eine enge Kapillare verbunden. Oberhalb der großen Ampulle befindet sich eine Meßkapillare. Der Inhalt der kleinen Ampulle zur großen Ampulle zur Meßkapillare verhält sich wie 25:125:1. In die untere Kammer wird bis zur Marke Serum aufgesaugt. Sodann wird ein Gemisch Amylalkohol-Gelbanilid und Schwefelsäure-Methylenblau nachgesaugt. Dadurch gelangt das Serum mit einem bestimmten Teil der Chemikalien in die größere Ampulle bis zur Grenze der Meßkapillare. Das in eine Spezialklammer eingespannte, beiderseits dicht verschlossene Röhrchen wird dann kräftig geschüttelt, bis sich der Inhalt gut vermischt hat. Die Schwefelsäure hydrolisiert dabei das koagulierte Eiweiß. Der Amylalkohol begünstigt das Zusammenfließen der Fettpartikelchen. Um eine gröbere Emulsion herzustellen, werden die gefüllten Röhrchen 3 Minuten in ein Wasserbad von 50° gestellt. Durch 10 Minuten langes scharfes Zentrifugieren sammelt sich das spezifisch leichtere Fett in der oberen Ampulle bis unterhalb der Meßskala. Die Ablesung der Fettmenge erfolgt in der Weise, daß die Flüssigkeit im Wasserbad sich langsam ausdehnt und das Fett in die Meßkapillare steigt, sodaß die Fettsäule gut abzulesen ist. Erleichtert wird die Ablesung noch dadurch, daß die Fettsäule durch das fettlösliche Anilingelb gelbrot, die übrige Flüssigkeit durch das Methylenblau grünblau gefärbt ist. Ein Skalenteil entspricht 0.04 ccm % Fett im Serum.

Die Hämolipokritmethode erwies sich für meine Untersuchungen nach einiger Übung als sehr brauchbar. Zur Kontrolle machte ich alle Bestimmungen doppelt. Dies erwies sich auch insofern als zweckmäßig, als manchmal die Fettsäule in der Meßkapillare zersplittert und dann eine genaue Ablesung nicht mehr möglich ist. Mehrere Autoren, wie BOEDICKER (7) und LEPPIEN (29), haben bereits mit dieser Methode gearbeitet und ihre Genauigkeit bestätigt. Nach LEPPIEN liegen

allerdings die mit der RÜCKERTschen Methode gefundenen Werte etwas unter den mit gravimetrischen Verfahren gewonnenen, was jedoch für Reihenuntersuchungen, bei denen es auf Vergleichswerte ankommt, keine Rolle spielen dürfte. Nach den Ausführungen von RÜCKERT (43) ermöglicht das Verfahren durch fraktionierte Schleuderung eine gesonderte Messung der Gesamtfette und des Cholesterins einerseits und der Phosphatide bezw. ihrer Fettsäureanteile andererseits. Die Werte für die phosphorfreien Gesamtfette sollen durch die sofortige Schleuderung zu ermitteln sein, während die zweite Schleuderung nach 12—24 Stunden außer den phosphorfreien Gesamtfetten noch den Fettsäureanteil der Phosphatide ergibt. Dieser Möglichkeit liegt die Eigenschaft der Phosphatide zu Grunde, sich in alkoholischer Schwefelsäure zu lösen, später aber wieder als Fettsäuren auszufallen. Nach mündlichen Mitteilungen von Herrn Dr. RÜCKERT sind jedoch die Untersuchungen über die fraktionierte Schleuderung noch nicht abgeschlossen. Seinem Rate folgend habe ich die Lipokritröhrchen erst nach 24 Stunden auszentrifugiert. Meine Fettwerte enthalten also die Fettsäureanteile der Phosphatide mit.

Die Anfangs- und Normalwerte.

Die Phosphatwerte.

Bei Beginn der Versuche zeigten die Kaninchen einen Serumphosphatgehalt zwischen 2.7 und 4.5 mg%; zum Vergleich seien die Normalwerte von NASER (33) angegeben, der bei seinen Versuchen solche zwischen 3.0 und 7.0 mg% fand. Die Höhe des Phosphatspiegels der Kontrolltiere (Nr. 24, 25, 26) während der ganzen Versuchsdauer war annähernd konstant. Die Veränderungen lagen innerhalb der von NASER (33) angegebenen physiologischen und methodischen Schwankungsbreite von ± 20 %.

Die Cholesterinwerte.

Der Cholesteringehalt des Kaninchenserums ist normalerweise außerordentlich gering, wahrscheinlich, weil das Kaninchen zu den Herbivoren gehört. Die Anfangswerte bei den Versuchstieren schwankten zwischen 0.04 und weniger

als 0.03 mg. Die Veränderungen des Cholesteringehaltes im Serum der Kontrolltiere gingen während der ganzen Versuchsdauer nicht über die von LASCH [28] mit ± 10 % angegebene physiologische und methodische Schwankungsbreite hinaus; hierdurch waren Schwankungen des Serumcholesteringehaltes infolge irgendwelcher Einflüsse der Versuchsanordnung auszuschließen.

Die Fettwerte.

Auch der Nüchternfettspiegel ist unter normalen Ernährungsverhältnissen gering. Während beispielsweise für den Menschen als Durchschnittswerte 0.5—0.8 ccm% angegeben werden (LANDOIS-ROSEMANN [27]), fand ich bei meinen Versuchskaninchen Anfangswerte zwischen 0.12 und 0.26 ccm%. Der niedrige Fettgehalt ist wohl ebenso wie der geringe Cholesteringehalt auf die einseitige Pflanzenernährung zurückzuführen. Die fortlaufende Beobachtung des Fettgehaltes bei den Kontrolltieren ergab, daß dieser annähernd konstant bleibt, ein Befund, wie ihn auch LEPPIEN [29] beim Menschen feststellen konnte. Auch hier ließen die geringen Schwankungen Störungen in der Versuchsanordnung als unwahrscheinlich erscheinen.

Die Untersuchung des Serums der Kontrolltiere wurde am 41. Tage der Zufütterungsperiode abgebrochen, da sich keinerlei größere Schwankungen in ihrem Blutchemismus gezeigt hatten.

Das Mangelfutter.

Bei tierexperimentellen Untersuchungen ist es vor Beginn der Verabreichung von Vitaminpräparaten erwünscht, eine Zeit lang die Tiere mit der (oben angegebenen) vitaminarmen Kost zu füttern (KOLLATH [25], JUSATZ [23]), und zuerst deren Einfluß zu erforschen. Die Versuchstiere werden dadurch auf ein gleiches Nahrungsniveau gebracht, bei dem die Wirkungsweise der einzelnen Vitamine oder ihrer Kombinationen am besten unter Ausschaltung störender Einflüsse beobachtet werden kann.

Einfluß auf den Phosphatspiegel.

Bei meinen Versuchen übte die Mangeldiät keinen so starken Einfluß auf den Phosphatgehalt des Kaninchen-

serums im Sinne einer ausgesprochenen Erniedrigung der Phosphatwerte aus, wie sie für D-Hypovitaminosen (Rachitis) charakteristisch ist (WARKANY [51]). Eine Hypophosphatämie konnte jedenfalls in keinem Falle beobachtet werden. Es war auch nicht beabsichtigt, durch das Mangelfutter einen avitaminotischen Zustand herbeizuführen, zumal z. B. das vollständige Fehlen von Vitamin A die Ausbildung einer D-Hypervitaminose erheblich beeinflussen kann (JUSATZ [24]).

Einfluß auf den Cholesterinspiegel.

Die Einwirkung des Mangelfutters auf den Cholesterinstoffwechsel wurde nicht geprüft, da die Normalwerte bereits so niedrig waren, daß ein evtl. weiteres Absinken mit den mir zur Verfügung stehenden Methoden nicht mehr hätte nachgewiesen werden können.

Einfluß auf den Fettspiegel.

Während bei den Kontrolltieren, die aus den oben genannten Gründen erst neun Tage später als die übrigen Versuchstiere auf Mangelfutter gesetzt werden konnten, keine einheitlichen Veränderungen am Schluß der Mangelfutterperiode zu sehen waren, zeigten sich bei den übrigen, schon früher auf Mangeldiät gesetzten Tieren eine eindeutige Erhöhung ihres Serumfettspiegels bis etwa 165 %.

Da alle Faktoren, durch die erfahrungsgemäß Steigerungen im Fettgehalt bedingt sind[5]), ausgeschlossen werden konnten, und auch die Befunde bei den später auf Mangelfutter gesetzten Kontrolltieren darauf hinwiesen, daß auch das Mangelfutter für die Steigerung nicht in Anspruch genommen werden konnte, mußte eine andere Ursache angenommen werden; vielleicht standen die hohen Fettwerte mit den in jenen Tagen (3.—18. August 1932) gerade herrschenden hohen Außentemperaturen in Zusammenhang. Dafür spricht auch, daß mit Eintritt kühleren Wetters (in den ersten Septembertagen 1932) die Serumfettwerte wieder auf die Normalwerte zurückgingen.

[5]) Erhöhte Nüchternfettwerte sind bei Hunger, starker körperlicher Anstrengung, Fettsucht, Diabetes, Gravidität, Potatorium und essentieller Hypertonie beobachtet worden (FAHRIG und WACKER [13], LANDOIS-ROSEMANN [27]).

Veränderungen des Serums infolge der Hefezufütterung.

Veränderungen des Phosphatspiegels.

Innerhalb der ersten fünf Tage nach Beginn der Hefezufütterung zeigten die Tiere Nr. 11 und Nr. 13 — das dritte Tier der Versuchsreihe Nr. 12 wurde erst am siebenten Tag der Zufütterungsperiode als Ersatztier in Versuch genommen — eine auffallende Erhöhung ihres Serumphosphats von 4.6 auf 6.0 mg% und von 2.6 auf 3.8mg%. Im Verlauf des weiteren Versuchs blieben die Werte fast konstant — sie schwankten um weniger als 10 % — auf der erreichten Höhe stehen.

Tier Nr. 12 zeigte während der ganzen Versuchsdauer nur minimale Veränderungen seines Serumphosphats.

Die Frage, wie die erheblichen anfänglichen Steigerungen zu erklären sind, muß ich offen lassen. Um eine Vitamin B-Wirkung handelt es sich zweifellos nicht, da die Erscheinungen bei einem Tier überhaupt nicht, bei den anderen Tieren nur innerhalb der ersten Tage auftraten. Falls das in der Hefe vorhandene Vitamin B den Phosphatspiegel überhaupt zu beeinflussen vermochte, hätten sich bei der weiteren und vermehrten Hefezufütterung unbedingt nochmals Schwankungen zeigen müssen. Ebensowenig ist für die anfängliche Erhöhung des Phosphatspiegels das in dem Hefepräparat in geringen Mengen vorhandene Vitamin D in Anspruch zu nehmen.

Eine Beeinflussung des Serumphosphates durch Vitamin B-Gaben konnte demnach nicht sicher nachgewiesen werden.

Veränderungen des Cholesterinspiegels.

Die Untersuchungen des Serumcholesterins bei den mit Hefe behandelten Tieren ergaben nur zweimal meßbare Werte, die jedoch noch im Bereich der physiologischen und methodischen Schwankungen lagen. Sämtliche anderen Werte lagen unter der 0.03 mg-Grenze.

Die Versuche ließen jedenfalls erkennen, daß Vitamin B-Zuführung auf den Serumcholesterinspiegel nicht im Sinne einer Erhöhung wirkt.

Veränderungen des Fettspiegels.

Nach den oben erörterten anfänglichen Schwankungen der Fettwerte wurden bei den mit Hefe gefütterten Tieren zwischen dem 18. und 22. Tag der Zufütterungsperiode wieder Werte gefunden, die den Anfangswerten entsprachen. Im weiteren Verlauf der Versuche zeigten sich keine größeren Schwankungen mehr; sie hielten sich auf der Höhe der Werte, die bei den Kontrolltieren gefunden wurden.

Eine unmittelbare Beeinflussung des Serumfettgehaltes durch die Vitamin B-Zuführung war nicht nachweisbar.

> Die Tiere nahmen in normaler Weise zu. Symptome einer B-Hypervitaminose, die durch den sog. „Status thymo-lymphaticus" charakterisiert sein soll (SCHEER [45]), waren nicht erkennbar, wahrscheinlich, weil die toxischen Vitamin B-Dosen weit über den Mengen liegen, die den Tieren in Form von täglich etwa 6—10 g Trockenhefe „Levurinose Blaes" beigebracht werden konnten.

Da keine weiteren Veränderungen mehr zu erwarten waren, wurden die Versuche an den mit Hefe gefütterten Tieren am 41. Tag der Zufütterungsperiode abgebrochen.

Veränderungen des Serums infolge der Vigantolzufütterung.

Veränderungen des Phosphatspiegels.

Schon die geringsten Mengen Vigantol (in den ersten 10 Tagen 0,012 mg pro die) hatten bereits einen sichtbaren Einfluß auf den Serumphosphatspiegel. Bei allen mit Vigantol allein gefütterten Tieren (Nr. 14, 15, 16) erfolgte innerhalb der ersten sieben Tage der Vigantolverabreichung eine geringe Senkung des Phosphatspiegels, auf die ich, wenn sie auch noch innerhalb der methodischen und physiologischen Schwankungsbreite lag, hinweisen möchte, weil auch HEUBNER (20) die gleiche Erscheinung bei seinen Versuchen beobachtet hat. Ein einwandfreier Anstieg des Phosphatgehaltes ließ sich aber dann vom 12. Tag der Zufütterungsperiode an erkennen.

Wenn manche Autoren (HEUBNER [20], NASER [33], WARKANY [50]) bereits innerhalb von 12 bis 48 Stunden eine Vigantolwirkung auf den Phosphatstoffwechsel feststellen konnten, so muß die außerordentlich hohe Dosierung, die bei den früheren Versuchen mit Vigantol üblich waren, dafür verantwortlich gemacht werden. Ein Vergleich zwischen den verschiedenen Dosierungen ist jedoch deshalb nicht möglich, weil früher nichtstandardisierte Lösungen verwendet wurden, die teilweise bis um das 40fache wirksamer waren als die heutigen standardisierten Handelspräparate.

Die von mir zunächst verwandten Vigantoldosen (0.012 mg pro die in den ersten 10 Tagen, 0.024 mg in den folgenden 8 Tagen) lagen weit unter der Wirksamkeitsschwelle der Einzeldosis. So mußte erst die Kumulationswirkung abgewartet werden. Am 12. Tag etwa war offenbar die Schwelle erreicht, bei der die erste sichtbare Reaktion des Organismus in Form einer eindeutigen Steigerung des Serumphosphatgehaltes auftrat. Bis zum 40. Tage etwa erhöhte sich bei allen drei mit Vigantol gefütterten Tieren der Phosphatspiegel rasch unter langsam steigenden Vitamin D-Mengen (bis 0.6 mg pro die); dieses Verhalten entspricht der Beobachtung HEUBNERS (19), daß in einem gewissen Dosenbereich der Anstieg des Phosphates der angewandten Dosis von Vitamin D parallel zu gehen scheint.

Den höchsten Wert von 7.0 mg% Phosphor erreichte das Tier Nr. 15, das den niedrigsten Anfangswert von 2.7 mg% aufgewiesen hatte, eine Bestätigung der Beobachtung NASERS (33), der bereits die Bedeutung der absoluten Anfangswerte für die Höhe des Ausschlags betont hat. Innerhalb der folgenden 6 Tage zeigte sich ein geringer Abfall der Phosphatwerte, so bei dem Tier Nr. 14 von 6.0 auf 5.2 mg% und in gleichem Maße bei den beiden anderen Tieren. Diese Senkung der Phosphatwerte könnte damit erklärt werden, daß das vom 41. bis 44. Tag der Zufütterungsperiode verabreichte alte (sog. 1 %) Vigantol infolge zweijähriger Lagerung durch Oxydationsvorgänge an Wirksamkeit eingebüßt hatte, und die Tiere auf die Unterbrechung der Zufuhr wirksamer Vitamine mit einer Senkung ihres Phosphatspiegels antworteten. Dafür spräche auch die erneute starke Steigerung des Serumphosphatgehaltes bei den beiden überlebenden Tieren, die bis zum Schluß der Versuche wieder große Dosen standardisierten Vigantols verabreicht erhielten.

Inzwischen war das Tier Nr. 15 (am 50. Tag), bevor ihm nochmals eine Blutprobe entnommen werden konnte, unter ausgesprochenen Zeichen einer D-Hypervitaminose eingegangen. Am 57. Tag starb das Tier Nr. 14 unter denselben Erscheinungen. Beide Tiere hatten innerhalb der letzten 12 bezw. 18 Tage Freßunlust, Kachexie und einen starken Gewichtsverlust aufgewiesen (von 3160 auf 2460 bezw. von 3260 auf 2040 g!).

Bei der Sektion fanden sich bei Nr. 15 makroskopisch deutliche Kalkablagerungen in der Aorta und der Magenwand, bei Nr. 14 solche in den Gefäßen, Magenwand, geringere auch in den Nieren[6]).

Die Hypervitaminoseerscheinungen des Tieres Nr 16 waren nicht so ausgesprochen wie die der beiden anderen Tiere. Schon der Gewichtsabfall, der nach PFANNENSTIEL (35) das erste Symptom einer beginnenden D-Hypervitaminose darstellt, erfolgte langsamer als bei den beiden anderen Tieren. Außer dem mäßigen Gewichtsabfall und den geringen Veränderungen im Blut waren äußerlich keine Hypervitaminosesymptome zu sehen, als es am letzten Versuchstag zu diagnostischen Zwecken getötet wurde.

Die Sektion ergab jedoch ebenfalls Verkalkungen an den Gefäßen, besonders der Aorta, der Magenwand und dem Colon, geringere an den Nieren.

Die Veränderungen des Cholesterinspiegels.

Die Beeinflussungen des Serumcholesterinspiegels durch Vitamin D-Darreichung ist aus den Arbeiten von BEHREND und BERBERICH (3), KREITMAIR und MOLL (26) und LASCH (28) bekannt. Bei dem geringen Cholesteringehalt des Kaninchenserums waren die feineren Veränderungen bei der langsam steigenden Vigantolverabreichung nicht zu verfolgen. Ich mußte mich darauf beschränken, die massiven Steigerungen gegen Ende der Versuchsperiode nachzuweisen.

Die erste deutliche Erhöhung des Serumcholesteringehaltes bei den mit Vigantol behandelten Tieren Nr. 15 und 16 auf 0.05 bezw. 0.055 mg wurde am 26. Tag der Zufütterungsperiode festgestellt.

[6]) Diese Befunde stehen in Einklang mit denen von BROWN und SHOLD (10), HAECKEL und WENZEL (15), KREITMAIR und MOLL (26), PUTSCHAR (39), REIHER und WALKHOFF (40) u. a. beschriebenen pathologisch-anatomischen D-Hypervitaminoseerscheinungen.

Während Tier Nr. 15 am 50. Tag einging, ohne daß der Cholesteringehalt nochmals bestimmt werden konnte, wurde bei dem Kaninchen Nr. 16 innerhalb der folgenden 8 Tage eine weitere starke Erhöhung um etwa 80 % nachgewiesen.

Auffällige Veränderungen gingen mit dem Cholesteringehalt des Tieres Nr. 14 vor sich. Bereits innerhalb der ersten 16 Tage der Zufütterungsperiode stieg der Cholesterinspiegel von weniger als 0.03 auf 0.042 mg. An diesem Tage wurde an der linken Halsseite ein etwa hühnereigroßer fluktuierender Tumor festgestellt. Das Allgemeinbefinden des Tieres litt augenscheinlich nicht, soweit es seine Freßlust und Gewichtszunahme erkennen ließen. Der Cholesteringehalt stieg in den folgenden Wochen auf 0.075 mg rasch an; während dieser Zeit entwickelte sich auch auf der anderen Halsseite ein ähnlicher Tumor. Nachdem am 40. Tag sich der Abszeß von selbst nach außen entleert hatte, war am 46. Tag der Cholesterinspiegel wieder auf 0.059 mg abgesunken, ein Wert, der nur wenig über den Werten der beiden anderen nur mit Vigantol behandelten Tiere Nr. 15 und 16 lag[7]).

Die weiteren Veränderungen seines Cholesterinspiegels entsprachen denen des Tieres Nr. 16.

Meine Ergebnisse bei den mit Vigantol behandelten Tieren stehen im Einklang mit den Untersuchungen der oben genannten Autoren, die durchweg bei Hunden und Katzen eine z. T. außerordentlich große Steigerung des Cholesterinspiegels (bis 2000 % der Normalwerte) nach Verabreichung von Vitamin D-Präparaten bezw. bei D-Hypervitaminosen sahen.

Die Veränderungen des Fettspiegels.

Die Vigantolfütterung hatte auf die Höhe des Nüchternfettspiegels im Serum einen deutlichen Einfluß. Ein fast gleichartiges Verhalten zeigten wieder die Tiere Nr. 15 und 16. Nach

[7]) Einen ähnlichen Fall beobachtete BOEDICKER (7), der bei einem Kaninchen mit einer eiternden Rückenwunde abnorm hohe Cholesterinwerte fand. Der pathologisch-anatomische Zusammenhang ergibt sich daraus, daß Cholesterinverfettungen bei solchen Prozessen entstehen, bei denen Zellen langsam intravital zerfallen (bei chronischen Entzündungen etc.), und daß an den Wänden älterer Abszesse immer größere Mengen von Cholesterinestern zu finden sind (ROESSLE [42]) (vergl. auch nächste Seite!).

der anfänglichen leichten Erhöhung (s. oben!) wiesen sie am 20. Tag der Zufütterungsperiode wieder etwa normale Werte auf, verhielten sich bis dahin also fast genau so wie die Kontroll- bezw. die mit Hefe behandelten Tiere. Vom 24. Tag an lagen die Werte jedoch deutlich über denen der Kontroll- und mit Hefe gefütterten Tiere. Tier Nr. 15 (eingegangen am 50. Tag) hatte zuletzt einen Fettgehalt von 0.28 ccm% gegenüber 0.16 ccm% am Anfang[8]). Bei Tier Nr. 16 stieg zur gleichen Zeit wie der Cholesterinspiegel, vom 46.—54. Tag der Serumfettspiegel sehr rasch von 0.24 auf 0.42 ccm%, um dann innerhalb der nächsten bezw. letzten 3 Tage wieder auf 0.38 ccm% abzusinken.

Das gleichartige Verhalten des Serumfettspiegels und des Serumcholesterinspiegels war am deutlichsten bei Tier Nr. 14 zu sehen, dem Tier, das die starken Schwankungen in seinem Cholesteringehalt, wahrscheinlich infolge des eitrigen Prozesses am Hals, gezeigt hatte; am 22. Tag wurde bei ihm ein Serumfettgehalt von 0.6 ccm% festgestellt. Offenbar ist ein Teil des Depotfettes durch Giftwirkung mobil gemacht worden, und auf diese Weise die Verfettung der entzündeten Gewebe entstanden (vergl. ROESSLE [42]). Die Lipämie zu dieser Zeit war vermutlich durch diese Mobilisation des Fettes bedingt. Ob es sich hier um eine Glyzerin- oder Cholesterinesterverfettung gehandelt hat, ist gleichgültig, da durch das Hämolipokritverfahren außer den Fettsäuren der Neutralfette auch die der Cholesterinester mit erfaßt werden. Nach Entleerung des Abszesses erfolgte ein rasches Absinken des Serumfettgehaltes zunächst auf einen Wert, der dem bei den anderen mit Vigantol behandelten Tieren gefundenen Werte entsprach und schließlich in der letzten Versuchswoche auf den normalen Durchschnittswert von 0.16 ccm% zurückging.

Die Beziehungen zwischen Lipämie und D-Hypervitaminose sollen erst im Zusammenhang mit den Ergebnissen erörtert werden, welche die Versuche an den zugleich mit Hefe gefütterten Kaninchen ergaben.

[8]) Bekannt ist, daß alle Lipoide in engster Beziehung zu einander stehen und die Erhöhung des einen Faktors, (z. B. durch Verfütterung großer Fett- oder Cholesterinmengen) immer auch die gleichzeitige und proportionale Erhöhung der anderen Faktoren nach sich zieht (FAHRIG und WACKER [13]).

Veränderungen des Serums bei der gleichzeitigen Hefe- und Vigantolzufütterung.

Die Veränderungen des Phosphatspiegels.

Der untereinander abweichende Verlauf der Versuche an den gleichzeitig mit Hefe und Vigantol gefütterten Tieren veranlaßt mich, die Verhältnisse bei dem Tier Nr. 21 gesondert von denen bei Nr. 22 und Nr. 23 zu besprechen.

Bei Tier Nr. 22 und 23 war die erste eindeutige Erhöhung des Serumphospatspiegels am 24. bezw. 25. Versuchstag zu beobachten, also etwa 12 Tage später als bei den Tieren, die Vigantol allein bekommen hatten. Auch wiesen die beiden Kaninchen im weiteren Verlauf einen wesentlich langsameren Anstieg ihrer Phosphatwerte auf, als die nur mit Vitamin D gefütterten Tiere. Das Tier Nr. 23 erreichte einen höchsten Phosphatwert von 5.9 mg%, der weit unter dem Höchstwert der mit Vitamin D allein behandelten Tiere lag. Das Tier Nr. 22 setzte den langsamen, fast gradlinigen Anstieg seines Phosphatspiegels fort, der nur innerhalb der letzten 3 Versuchstage wieder etwas zurückging.

Erhebliche Schwankungen seines Phosphatstoffwechsels zeigte das Tier Nr. 21. Schon innerhalb der ersten 10 Tage der kombinierten Hefe- und Vigantolverabreichung stieg sein Serumphosphatgehalt von 3.5 auf 5.1 mg%. Bei diesem Tier ist in Betracht zu ziehen, daß es zu Beginn der Versuche noch ziemlich jung war, vielleicht auch etwas zurückgeblieben, worauf schon sein geringes Anfangsgewicht von nur 2080 g hinwies. Die rasche und starke Reaktion auf Vigantolgaben, auf die die anderen Tiere noch nicht ansprachen, könnte mit der erhöhten Reaktionsbereitschaft des noch im Wachstum befindlichen Organismus zusammenhängen. Auch im weiteren Verlauf wies das Tier Nr. 21 größere Schwankungen seines Phosphatspiegels auf, entsprach jedoch im ganzen der Reaktion der beiden anderen mit Hefe und Vigantol gefütterten Tiere. In den letzten 12 Versuchstagen zeigte das Tier bezüglich seines Phosphatspiegels eine dem Verhalten der mit Vitamin D allein gefütterten Tiere ähnliche Reaktionsweise, indem es im steilen Anstieg Phosphatwerte von über 7 mg% aufwies.

Die Zeichen der Hypervitaminose waren bei den Kaninchen, die zugleich Hefe und Vigantol bekommen hatten, nicht so ausgeprägt,

wie bei den allein mit Vitamin D behandelten Tieren. Die geringsten toxischen Erscheinungen waren bei dem Kaninchen Nr. 22 zu erkennen, das bis zuletzt sehr munter war und ausgezeichnet fraß. Innerhalb der letzten Tage vor der zu diagnostischen Zwecken vorgenommenen Tötung war das Gewicht in geringem Grade (von 3500 auf 3220 g) abgesunken.

Bei der Sektion waren noch reichliche Fettdepots vorhanden. Außer geringfügigen Verkalkungen an der großen Kurvatur des Magens waren makroskopisch keine pathologischen Veränderungen zu sehen.

Bei der Betrachtung des Verhaltens von Tier Nr. 23, das bereits am 45. Versuchstag einging, ist keine eindeutige Beurteilung möglich. Der starke Gewichtsverlust innerhalb der letzten 10 Tage von 3360 auf 2600 g, die erhebliche Kachexie und Freßunlust könnten zwar als Symptome einer D-Hypervitaminose gedeutet werden. Dem gegenüber ließ die relativ mäßige Steigerung des Phosphatgehaltes vermuten, daß eine evtl. D-Hypervitaminose noch nicht allzuweit fortgeschritten sein konnte. Auch waren bei der Sektion makroskopisch keine Veränderungen im Sinne einer Hypervitaminose zu erkennen. Die genaue Todesursache ließ sich nicht ermitteln.

Deutliche Symptome einer Hypervitaminose waren dagegen bei Tier Nr. 21 festzustellen, auf dessen stärkere Reaktionsweise ja bereits aufmerksam gemacht wurde.

Es wurde am 57. Versuchstag aus diagnostischen Gründen getötet. Das Gewicht war in den letzten 15 Tagen von 2520 auf 2000 g abgefallen. Seit 10 Tagen hatte die Freßlust erheblich abgenommen. Die Sektion ergab starke Verkalkungen an der Aorta, sehr ausgedehnte in der Bauchmuskulatur und geringere an den Nieren.

Die Veränderungen des Cholesterinspiegels.

Die ersten Veränderungen des Serumcholesterinspiegels bei den gleichzeitig mit Hefe und Vigantol behandelten Tieren wurden bei den Kaninchen Nr. 21 und 23 an dem gleichen (46.) Tag wie an den Vigantoltieren beobachtet; die Cholesterinwerte lagen sogar bei diesen beiden Tieren noch etwas über denen der mit Vitamin D allein gefütterten Tiere. Bei Tier Nr. 22 — demselben Tier, dessen langsame Reaktionsweise bei den Phos-

phatuntersuchungen aufgefallen war — zeigte sich die erste Erhöhung von 0.03 auf 0.05 mg erst acht Tage später. Umgekehrt ließ Kaninchen Nr. 21 (entsprechend seiner stärkeren Reaktionsbereitschaft) die stärkste Erhöhung seines Cholesterinspiegels von allen Tieren auf 0.115 mg, d. h. auf das dreifache seines Anfangswertes erkennen.

Veränderungen des Fettspiegels.

Die Ergebnisse der Fettuntersuchungen sind auch hier ähnliche wie bei den Cholesterinuntersuchungen. Von den anfänglichen Schwankungen abgesehen, hatten die mit Hefe und Vigantol behandelten Tiere etwa am 20. Versuchstag, verglichen mit den Kontroll- und den mit Hefe gefütterten Tieren, wieder normale Durchschnittsfettwerte erreicht. Vom 29. Tag der Zufütterungsperiode an lagen die Werte jedoch eindeutig über denen der Normaltiere.

Die größten und raschesten Schwankungen waren wiederum bei Tier Nr. 21 zu erkennen, das bereits am 22. Tag einen erhöhten Fettgehalt zeigte. Die Werte stiegen bei diesem Tier, abgesehen von einer vorübergehenden Senkung am 32. Tag, stetig bis zum 53. Tag an (bis 0.44 ccm%) und fielen innerhalb der letzten vier Tage in ähnlicher Weise wie bei den Tieren Nr. 15 und 16 auf 0.34 ccm%.

Die Tatsache, daß vom 26. Versuchstag an bei allen Tieren, die mit Vigantol bezw. mit Vigantol und Hefe gefüttert wurden, eine Erhöhung des Nüchternfettspiegels gegenüber den Normaltieren eingetreten ist, also einige Tage, nachdem auch eine sichere Einwirkung der Vigantolzufütterung auf den Phosphatspiegel nachzuweisen war, deutet darauf hin, daß die Veränderungen auf der Verabreichung von Vigantol beruhen. Die absolute Höhe der Dosierung scheint dabei keinen Einfluß auf den Grad der Steigerung zu haben. Das mit dem Vigantol gegebene Sesamöl ist für die Steigerung nicht verantwortlich zu machen, zumal auch gegen Ende des Versuches, zu einer Zeit also, zu der die höchsten Mengen (bis zu 6 ccm ölige Vigantollösung täglich in mehreren Einzeldosen) gegeben wurden, die Fettwerte bei den Tieren Nr. 14, 16 und 21 sogar sanken. Eine durch das Sesamöl hervorgerufene Lipämie dürfte 15 Stunden nach der letzten Vigantolgabe (die Differenz von 15 Stunden ergibt sich aus dem Zeitpunkt der letzten Verabreichung um 18 Uhr und dem der

Blutentnahme am nächsten Morgen um 9 Uhr) verschwunden sein[9]). Für die Steigerung des Nüchternfettspiegels ist also das in dem Vigantol enthaltene Vitamin D verantwortlich zu machen.

Auffallende Schlußwerte zeigten die Tiere Nr. 22 und 23 (die beide mit der Hefe-Vigantolkombination behandelt waren), deren Fettwerte dicht oberhalb der Grenze des Normalen gelegen hatten.

Zu dem hohen Serumfettwert von Tier Nr. 23 ist zu bemerken, daß das letzte untersuchte Blut in der Agonie entnommen wurde (Tod wahrscheinlich nicht durch Hypervitaminose verursacht, s. Sektionsbericht), und daß die enorme Steigerung von 0.2 auf 1.12 ccm% vielleicht durch eine interkurrente Krankheit bezw. agonale Veränderungen bedingt war.

Bei Tier Nr. 22 erhöhte sich der Serumfettspiegel innerhalb der letzten drei Tage vor der zu diagnostischen Zwecken vorgenommenen Tötung von 0.12 auf 0.78 ccm%, ohne daß das Tier sonstige schwere Krankheitssymptome bot. Die Frage nach der Veranlassung zu dieser Steigerung muß daher offen bleiben.

Vergleich der Untersuchungsergebnisse.

Vergleich der Phosphatwerte.

Eine unmittelbare Beeinflussung des Serumphosphatspiegels durch Vitamin B-Gaben war nicht nachweisbar. Vergleicht man jedoch das Verhalten des Phosphatstoffwechsels bei reiner Vitamin D- und kombinierter Vitamin B+D-Fütterung, so läßt sich eine Beeinflussung der durch die Vigantolgaben hervorgerufenen Hyperphosphatämie durch die gleichzeitige Verabreichung des Vitamin B-Komplexes in Form von Trockenhefe feststellen. Hier kommt der Synergismus bezw. Antagonismus der Vitamine B und D zum Ausdruck. Jede, auch die kleinste Erhöhung des Phosphatspiegels, die durch Vigantol hervorgerufen wird — sie soll nach WARKANY (51) durch ein erhöhtes „Phosphatfassungsvermögen des Blutes" bedingt sein — ist als pathologisch anzusehen. Dieser pathologischen

[9]) Nach LEPPIEN (29) liegt beim Menschen das Maximum der Lipämie 3—4 Stunden nach der Einnahme eines Oelfrühstücks.

Erhöhung wirkt die Trockenhefe, bezw. der darin enthaltene Vitamin B-Komplex entgegen. Durch die gleichzeitige Hefeverabreichung wurde der erste faßbare Anstieg des Serumphosphatgehaltes um etwa 12 Tage verzögert. Diesen Abstand behielten die beiden Versuchsreihen in den folgenden Wochen bei. Bis zum 40. Tag der Zufütterungsperiode lagen die Phosphatwerte der mit Vitamin B und D gefütterten Tiere in der Mitte zwischen denen der Normaltiere und denen der mit Vigantol allein behandelten Tiere.

Daß bei meinen Versuchen die Wirkung der Vigantolverabreichung nicht völlig durch die gleichzeitige Darreichung von Trockenhefe kompensiert werden konnte, ist vielleicht durch die verschieden große Dosierung der beiden Vitamine begründet, indem den bequem zu gebenden großen Dosen von Vitamin D gegenüber nur relativ geringe Mengen von Vitamin B verfüttert werden konnten. So verwischten sich innerhalb der letzten 14 Tage die Unterschiede in dem Verhalten des Phosphatspiegels der mit Vitamin D allein und der mit Vitamin B und D gefütterten Tiere. Hier war wahrscheinlich ein Stadium ereicht, in dem durch die übergroßen Vigantoldosen die Phosphatregulationsmechanismen so schwer geschädigt waren, daß eine Rückkehr zur Norm wohl ausgeschlossen schien.

Daß trotzdem noch ein Einfluß des Vitamin B auf die Hypervitaminoseerscheinungen bestand, zeigten die Gewichtsveränderungen und die Sektionsergebnisse. Sieht man von Tier Nr. 23 ab, das wahrscheinlich aus anderen Gründen eine so rapide Gewichtsabnahme erfuhr (s. oben!), so ist in Übereinstimmung mit den Befunden von JUSATZ (24) festzustellen, daß bei den mit Vitamin B und D gleichzeitig gefütterten Tieren der Gewichtsabfall sowohl später als auch langsamer erfolgte, als bei den allein mit Vitamin D behandelten Tieren. Auch in den Sektionsbefunden ließen sich die Unterschiede in den beiden Versuchsreihen einigermaßen deutlich erkennen, wie das auch RIX (36) bei seinen histologischen Untersuchungen gesehen hat. Wiesen sämtliche mit Vitamin D allein gefütterten Tiere ausgeprägte hypervitaminotische Veränderungen auf, so zeigte von den mit Vitamin B und D gefütterten Versuchstieren nur das Kaninchen Nr. 21 deutliche Verkalkungen, Tier Nr. 22 dagegen nur ganz geringe und Tier Nr. 23 sogar überhaupt keine pathologischen Befunde.

Vergleich der Cholesterinwerte.

Die Untersuchungen über den Einfluß der Vitamine in B-Darreichung auf den Serumcholesterinspiegel konnten nur wenig aufschlußreich sein. Eine Steigerung des Cholesteringehaltes war keinesfalls zu erwarten, höchstens unter Umständen eine Senkung. Eine solche festzustellen war mir jedoch aus den oben angeführten methodischen Gründen unmöglich.

In dem Verhalten des Serumcholesterins bei Vitamin B- und bei Vitamin B+D-Zufütterung konnten keine deutlichen Unterschiede gefunden werden.

Vergleich der Fettwerte.

War eine Beeinflussung des Fettspiegels durch Vitamin B-Verabreichung weder im Sinne einer Erhöhung noch einer Senkung nachweisbar, so gibt auch ein Vergleich zwischen dem Verhalten der mit Vitamin D und B + D gefütterten Tiere keinen Aufschluß darüber, ob der Nüchternfettspiegel der mit Vigantol gefütterten Tiere durch die gleichzeitige Verabreichung von Trockenhefe beeinflußt wird, da keine deutlichen Unterschiede zwischen den beiden Versuchsreihen hinsichtlich der Schwankungen ihres Serumfettgehaltes zu erkennen waren.

Vergleicht man zeitlich den Eintritt der Hyperphosphatämie mit dem der Hyperlipämie, so stellt sich heraus, daß die Hyperlipämie erst einige Tage nach der Hyperphosphatämie auftritt. Diese Beobachtung legt den Gedanken eines ursächlichen Zusammenhanges zwischen beiden Vorgängen nahe.

Schlußfolgerungen.

Meine Versuche bestätigten die früheren Beobachtungen, daß der Eintritt der Hyperphosphatämie den Beginn einer D-Hypervitaminose anzeigt, und daß der zeitliche Eintritt der D-Hypervitaminose durch gleichzeitige Zufuhr von Vitamin B-Präparaten verzögert werden kann. Aus diesem Verhalten hat man schon früher auf einen Synergismus bezw. Antagonismus der Vitamine B und D geschlossen. Die Verzögerung der D-Hypervitaminose scheint bedingt zu sein

durch die Verzögerung der Hyperphosphatämie. Wie die Einwirkung zustande kommt, ist noch nicht restlos geklärt. Vielleicht steht sie in Zusammenhang mit dem Einfluß des Vitamin B-Faktors auf den Kohlehydratstoffwechsel (BICKEL [5, 6]).

> Durch Zufuhr von Vitamin B werden nach BICKEL's Ansicht die dem Organismus zugeführten Kohlehydrate besser ausgenutzt, während bei dem Fehlen des Vitamin B toxische Stoffwechselprodukte (Methylglyoxal) entstehen sollen.

Hier müssen weitere Untersuchungen einsetzen.

Der zeitlich spätere Eintritt der Serumfetterhöhung (s. oben!) zeigt, daß diese Veränderungen erst im Gefolge der Hyperphosphatämie auftreten.

Zusammenfassung.

1. Die Darreichung von Vitamin B in Form von „Levurinose Blaes" beeinflußt in der oben angegebenen Dosierung weder den Phosphat-, noch den Cholesterin- oder Fettgehalt im Blutserum von Kaninchen.

2. Die gleichzeitige Verabreichung von Trockenhefe hemmt die durch die Vigantoldarreichung verursachte Erhöhung des Phosphatspiegels im Blutserum von Kaninchen (Synergismus bezw. Antagonismus der Vitamine B und D).

3. Ein Einfluß der gleichzeitigen Verabreichung von Trockenhefe auf die durch Vigantoldarreichung verursachten Veränderungen im Cholesterin- und Fettstoffwechsel war bei den gleichen Tieren nicht nachzuweisen.

Schrifttum:

1. ASKANAZY in ASCHOFF, Lehrb. d. path. Anat. I. T. Jena 1913.
2. AUTENRIETH-FUNK, Münch. med. Wschr. 1913 Nr. 60.
3. BEHREND u. BERBERICH, Münch. med. Wschr. 1928, 2134.
4. BELL-DOISY, J. Biol. Chem. 1920, 44, 55.
5. BICKEL, Münch. med. Wschr. 1924, 1603.
6. BICKEL, Münch. med. Wschr. 1924, Nr. 46.
7. BOEDICKER, Arch. f. Hyg. 1932, 107.
8. BOHN u. BICKENBACH, Z. ges. exp. Med. Bd. 71, 566.
9. BRIGGS, J. Biol. Chem. 1922, 53, 13; 1924, 59, 255.
10. BROWN u. SHOLD, J. Biol. Chem. 1930, 86, 245.
11. COCCHERI u. ROSSI, ref. Z. Vitaminforschg. I, 243.
12. FAHRIG u. WACKER, Klin. Wschr. 1932, 762.
13. FAHRIG u. WACKER, Klin. Wschr. 1932, 886.
14. FREUDENBERG, Z. f. Kinderheilk. 1931, 51, 3.
15. HAECKEL u. WENZEL, Arch. exper. Path. u. Pharm. 1929, 141, 292.
16. HARRIS, Lancet, 218, 234, 1930.
17. HARRIS u. MOORE, Dtsch. ausführl. Ref. Zbl. Hyg. 1924, 20, 581.
18. HERMANN, Klin. Wschr. 1929, 1752.
19. HEUBNER, Chem. Zbl. 1930, I, 1000.
20. HEUBNER, Schweiz. med. Wschr. 1932.
21. HOLSEN, Z. Vitaminforschg. I, 1.
22. JONES, RAPOPORT, HODES, J. Biol. Chem. 1930, 89, 647.
23. JUSATZ, Klin. Wschr. 1932, 1501.
24. JUSATZ, Z. exper. Med. Bd. 87, 529, 1933.
25. KOLLATH, Klin. Wschr. 1931, 1841.
26. KREITMAIR u. Moll, Münch. med. Wschr. 1928, 637.
27. LANDOIS-ROSEMANN, Lehrb. d. Phys. 1929, Berlin u. Wien.
28. LASCH, Klin. Wschr. 1928, 2148.
29. LEPPIEN, Z. exper. Med. 1932.
30. LIGTH, MILLER, FREY, J. Biol. Chem. 1929, 89, 487.
31. MASSENGALE u. NUSSMEIER, J. Biol. Chem. 1930, 87, 415.
32. MUELLER, Ernst, Beitr. z. Path.-Anat. u. z. Allg. Path. Bd. 80, 1.
33. NASER, Arch. exper. Path. u. Pharm. 1930, Bd. 158, 201.
34. PFANNENSTIEL, Klin. Wschr. 1927, 1913 (Diskussionsbemerk.).
35. PFANNENSTIEL, Münch. med. Wschr. 1928, 1113 u. Z. Immunforschg. 56.
36. PFANNENSTIEL u. SCHARLAU, Münch. med. Wschr. 1930, 619.
37. PFANNENSTIEL, Marb. Sitz. Ber. 1933, Bd. 67, Hft. 3, u. Z. physikalische Ther. 1933.
38. POULSSON, Lehrb. d. Pharm. Leipzig 1930.
39. PUTSCHAR, Z. f. Kind. H. K. Bd. 48. 269, 1929.
40. REIHER u. WALKHOFF, Münch. med. Wschr. 1928, 1071.
41. RIX, noch nicht veröffentlicht.
42. ROESSLE in ASCHOFF, Lehrb. d. Path. Anat. I, 289, Jena 1913.
43. RUECKERT, Klin. Wschr. 1931, 1853.
44. RUECKERT, Verh. d. Dtsch. Ges. f. Inn. Med. XLIII. Wiesb. 1931.
45. SCHEER, Münch. med. Wschr. 1925, 2167.

46. SCHRETTER u. HASLHOFER, Z. f. Exper. Med. 1931, Bd. 76, 352.
47. SHELLING, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1930, 298.
48. THOENES, J. f. Kind. H. K. 1930, Bd. 129, 171.
49. WARKANY, Bioch. Zschr. 1927, 190.
50. WARKANY u. WATZKY, Zschr. f. Kind H. K. 1929, Bd. 48, 442.
51. WARKANY, Klin. Wschr. 1930, 63.
52. WEICHARD, ref. Z. Vitaminforschg. I, 152.

Erläuterung zur Zeichnung.

1. Zu den Phosphorkurven: Die seitlich stehenden Zahlen geben mg% an.
2. Zu den Cholesterinkurven: Die seitlich stehenden Zahlen bedeuten ebenfalls mg.
3. Zu den Fettkurven: Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurden die Fettwerte in Skalenteilen des Hämolipokritröhrchens angegeben. Um zu (annähernd, s. T.!) absoluten Werten zu kommen, müssen die in den Kurven abgelesenen Werte mit 0.04 multipliziert werden, woraus sich der ccm%-Gehalt im Serum ergibt.
4. Zu den Gewichtskurven: Die Werte sind in g angegeben.
5. Zu den Kolumnen, die Hefe- und Vigantolzufütterung betreffend: Die unterbrochenen Kolumnen geben die Menge der tgl. zugefütterten Hefe in g an, die ausgezogenen Kolumnen die tgl. Gaben standardisierten Vigantols in ccm.
6. Die unter der untersten Abszisse angegebenen Zahlen geben die Tage der Mangelfutter- und Zufütterungsperiode an. Sie gelten für alle Kurven.
7. Auf der linken Ordinate sind die Anfangswerte, auf der rechten die Werte abgetragen, die nach 14tägiger Mangeldiät ermittelt wurden.
8. Die Werte der mit Hefe gefütterten Tiere (11, 12, 13) sind durch . . . .,
   die Werte der mit Vigantol gefütterten Tiere (14, 15, 16) duch — — —,
   die Werte der mit Hefe und Vigantol gefütterten Tiere (21, 22, 23) durch —.—.—,
   die Werte der Kontrolltiere (24, 25, 26) durch ——— markiert.

Lebenslauf.

Ich bin am 9. Juni 1908 in Marburg als Sohn des damaligen Landgerichtsrat Hermann Wenzel und seiner Ehefrau Julie, geb. Polstorf, geboren. Das Reifezeugnis erhielt ich am 4. März 1927 am Gymnasium Philippium in Marburg. Nachdem ich ein Semester Rechtswissenschaften in Tübingen studiert hatte, begann ich im Herbst 1927 dort mit dem Studium der Medizin. Im Herbst 1928 setzte ich das Studium in Marburg fort, wo ich die ärztliche Vorprüfung Ostern 1930 bestand. Von den klinischen Semestern verbrachte ich das erste in Kiel, die übrigen in Marburg. Dort bestand ich am 18. Juli 1933 das medizinische Staatsexamen. Seit dem 1. August 1933 bin ich als Medizinalpraktikant in der Universitätskinderklinik in Marburg tätig.

Meine vorklinischen Lehrer waren:

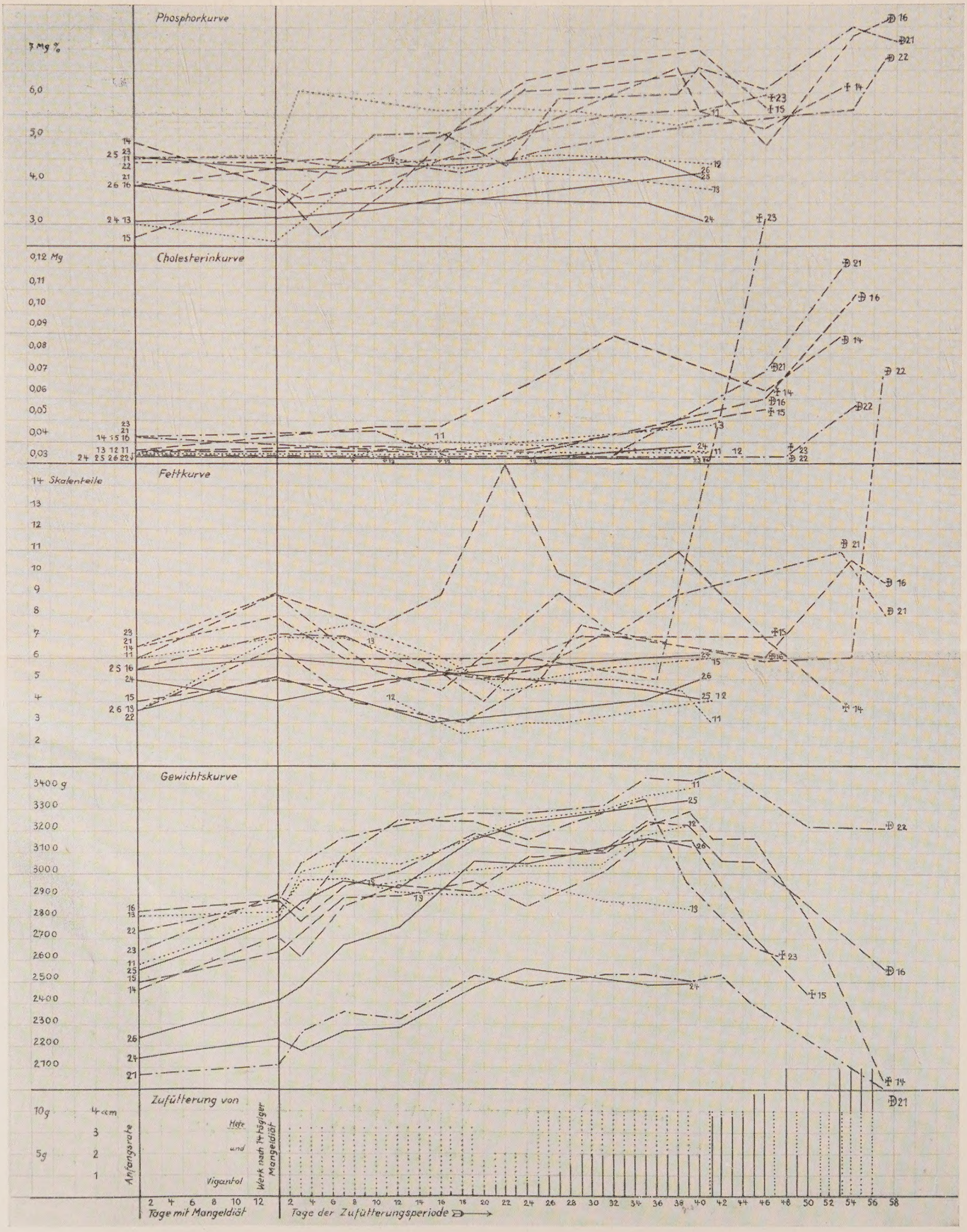
In Tübingen: Gerlach, Harms, Heidenhain, Knoop, Lehmann, Oertel;

in Marburg: Alverdes, Claussen, Dittler, Göppert, Grüneisen, Kutscher, Nauk.

Meine klinischen Lehrer waren:

In Kiel: Anschütz, Jores, Puhl, Schittenhelm, Stockinger;

in Marburg: Arndt, Baur, Boeminghaus, Eimer, Freudenberg, Grüter, Gürber, Hildebrand, Klapp, Kretschmer, Loebell, Naujoks, Neumann, Pfannenstiel, Ruele, Schwenkenbecher, Uffenorde, Versé, Wiedhopf.


Phosphorkurve
mg %
6,0
5,0
4,0
3,0
Cholesterinkurve
0,12 Mg
0,11
0,10
0,09
0,08
0,07
0,06
0,05
0,04
0,03
Fettkurve
14 Skalenteile
13
12
11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
Gewichtskurve
3400 g
3300
3200
3100
3000
2900
2800
2700
2600
2500
2400
2300
2200
2100
Zufütterung von
10g
5g
4 ccm
3
2
1
Anfangsrate
Hefe
und
Vigantol
Werk nach 14 tägiger Mangeldiät
2 4 6 8 10 12
Tage mit Mangeldiät
2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30 32 34 36 38 40 42 44 46 48 50 52 54 56 58
Tage der Zufütterungsperiode